

RESEARCH ARTICLE

Determination of Reducing Sugar Groups from Hydrolysis of *Arthrospira platensis* Microalgae using Microwaves

(Penentuan Gugus Gula Reduksi Hasil Hidrolisis Mikroalga *Arthrospira platensis* dengan Menggunakan Gelombang Mikro)

Sholeh Ma'mun^{*}, Nur Ariffa Rochmaningsih, Riqqah Nabila, Aisyah Sumalyani

Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri, Universitas Islam Indonesia,
Jl. Kaliurang Km. 14,5 Yogyakarta 55584, Indonesia

ABSTRACT

The depletion of fossil fuel sources and increasing carbon dioxide (CO₂) emissions have encouraged research into renewable energy sources. Bioethanol is an environmentally friendly energy source with considerable potential for reducing dependence on gasoline. Bioethanol is produced from the fermentation process of monosaccharides. The first and second generations of bioethanol are derived from food crops, agricultural waste, and plantation waste, whereas the third generation is produced from microalgae. *Arthrospira platensis* is a carbohydrate-rich microalgae. This study attempts to determine the content of reducing sugar groups which are monosaccharides formed from a hydrolysis with microwaves. A total of 10 g of microalgae powder was added to 100 mL of 0.3 M H₂SO₄ solution. The hydrolysis process was carried out in a microwave reactor at a temperature of 100°C for 90 minutes. The hydrolysate obtained was then fermented with *Saccharomyces cerevisiae* anaerobically in a shaking water bath. The High Performance Liquid Chromatography (HPLC) test was performed to identify reducing sugar groups in the hydrolysate, and the Gas Chromatography (GC) test was performed to determine the concentration of bioethanol produced during the fermentation process. Meanwhile, the solid content of biochar that remained after hydrolysis was analyzed using Fourier-Transform Infrared Spectroscopy (FTIR). The HPLC test findings showed that the glucose concentrations before and after fermentation were 10.52 and 1.91 g/L, respectively, indicating that 81.8% of the glucose was converted to bioethanol. Furthermore, the distillation results from the fermented hydrolysate were analyzed using GC, yielding a bioethanol content of 3.90 g/L.

Menipisnya sumber bahan bakar fosil dan meningkatnya emisi karbon dioksida (CO₂) telah mendorong kegiatan penelitian untuk menemukan sumber-sumber energi terbarukan. Bioetanol merupakan sumber energi yang ramah lingkungan dan memiliki prospek yang menjanjikan untuk mengurangi ketergantungan pada gasolin. Bioetanol dihasilkan dari proses fermentasi monosakarida. Bioetanol generasi pertama dan kedua berasal dari tanaman pangan, limbah pertanian, dan limbah perkebunan, sedangkan generasi ketiga dihasilkan dari mikroalga. *Arthrospira platensis* merupakan salah satu jenis mikroalga dengan kandungan karbohidrat yang tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kandungan gugus gula reduksi yang merupakan monosakarida hasil hidrolisis dengan bantuan gelombang mikro. Sebanyak 10 g serbuk mikroalga ditambahkan ke dalam 100 mL larutan 0,3 M H₂SO₄. Proses hidrolisis dijalankan dalam sebuah reaktor *microwave* pada suhu 100°C selama 90 menit. Selanjutnya hidrolisat yang diperoleh difermentasi dengan ragi *Saccharomyces cerevisiae* secara anaerob di dalam *shaking water bath*. Uji HPLC dilakukan untuk mengidentifikasi gugus-gugus gula reduksi dalam hidrolisat, sedangkan uji GC dilakukan untuk menentukan konsentrasi bioetanol yang dihasilkan dari proses fermentasi. Sementara itu, kandungan padatan *biochar* sisa hidrolisis dianalisis menggunakan FTIR. Dari hasil pengujian HPLC diperoleh konsentrasi D-glukosa sebelum fermentasi sebesar 10,52 g/L dan setelah fermentasi sebesar 1,91 g/L atau sebanyak 81,8% D-glukosa terkonversi menjadi bioetanol. Selanjutnya hasil distilasi dari fermentasi hidrolisat diuji dengan GC dan diperoleh kadar bioetanol sebesar 3,90 g/L.

Keywords: *Arthrospira platensis*, Bioethanol, Microalgae, Microwave, *Saccharomyces cerevisiae*.

^{*}Corresponding author:
Sholeh Ma'mun
E-mail: sholeh.mamun@uii.ac.id

PENDAHULUAN

Bahan bakar fosil masih menjadi sumber energi utama di Indonesia. Beberapa dekade yang lalu,

Indonesia merupakan salah satu produsen minyak bumi terbesar di dunia, tetapi karena konsumsi lebih besar dari pada produksi, maka saat ini Indonesia telah menjadi negara pengimpor minyak bumi [1]. Data dari

Kontan [2] menunjukkan bahwa pada tahun 2017 produksi minyak bumi Indonesia sebesar 949 ribu barel per hari dan turun menjadi 773 ribu barel per hari pada tahun 2018. Sektor industri dan transportasi merupakan sektor yang menggunakan Bahan Bakar Minyak (BBM) terbesar, misalnya konsumsi rata-rata BBM oleh PT. Kereta Api Indonesia sebesar 200 juta liter per tahun [2].

Saat ini penelitian untuk mencari sumber-sumber energi alternatif dan terbarukan dilakukan semakin intensif. Hal ini disebabkan karena semakin menipisnya sumber bahan bakar fosil. Selain itu, komitmen untuk menurunkan emisi karbon dioksida (CO₂) sebagai penyebab terjadinya perubahan iklim telah menjadi *driving force* penelitian-penelitian di bidang Energi Baru dan Terbarukan (EBT). Menurut Dasan *et al.* [3] bahwa bahan bakar berbasis biomassa, berdasarkan *Life Cycle Assessment* (LCA), memberikan emisi CO₂ negatif. Bioetanol merupakan salah satu jenis EBT berbahan dasar biomassa yang ramah lingkungan yang dapat mensubstitusi gasolin. Bioetanol terbuat dari konversi biomassa melalui proses fermentasi.

Bioetanol generasi pertama diproduksi dari hasil fermentasi tanaman pangan seperti tebu, jagung, dan hasil pertanian lainnya, sedangkan bioetanol generasi kedua berasal lignoselulosa seperti residu hasil pertanian, hutan, dan bahan ligniselulostik lainnya. Berdasarkan tinjauan ekonomi bahwa bioetanol generasi pertama terhitung lebih murah, akan tetapi dapat menyebabkan kompetisi dengan sumber pangan. Sementara itu, pembuatan bioetanol generasi kedua lebih kompleks dibandingkan bahan baku lainnya dikarenakan adanya lignin di dalamnya. Dengan mempertimbangkan permasalahan di atas, maka beberapa peneliti mulai aktif untuk mengembangkan produksi bioetanol generasi ketiga yang berasal dari mikroalga [4]. Sebagai negara maritim, Indonesia mempunyai pesisir yang sangat luas, sehingga mempunyai potensi yang besar dalam pembudidayaan mikroalga. Selain itu, jumlahnya yang melimpah dapat memberikan potensi tinggi dalam keberlanjutan produksi.

Menurut Mayers *et al.* [5] bahwa untuk saat ini sintesis bioetanol dari mikroalga belum memberikan keuntungan dibandingkan dari sumber lainnya dalam skala besar, karena rute proses dan juga penggunaan energi yang belum optimal. Penelitian-penelitian yang dilakukan saat ini masih fokus untuk mencari solusi

dari permasalahan di atas dengan mempertimbangkan kondisi operasi pembudidayaan mikroalga seperti pasokan cahaya, nutrisi, suhu, dan derajat keasaman (pH) media budidaya. Selain itu, studi tentang proses penyiapan (*pretreatment*) bahan baku dan proses fermentasi sedang giat dilakukan oleh beberapa peneliti untuk mencari kondisi yang optimum. Ada beberapa metode *pretreatments* yang digunakan dalam hidrolisis mikroalga, antara lain menggunakan CO₂ superkritis [6], ultrasonikasi [7, 8], *hydrothermal* [9], dan menggunakan larutan asam maupun basa dengan bantuan gelombang mikro [10-13]. Di antara metode *pretreatments* di atas, kombinasi pemanasan dengan gelombang mikro menggunakan larutan asam merupakan metode terbaik karena memerlukan lebih sedikit energi, sehingga menurunkan biaya keseluruhan [12]. Namun konsentrasi asam yang digunakan harus rendah untuk mengurangi sifat korosif. Berdasarkan alasan ini, *pretreatment* hidrolisis asam dengan bantuan gelombang mikro digunakan dalam penelitian ini.

Bioetanol diproduksi dari hasil fermentasi gula monosakarida dengan menggunakan ragi *Saccharomyces cerevisiae*. Namun demikian, tidak semua gugus gula reduksi dapat dikonversi menjadi alkohol, hanya D-glukosa, D-galaktosa, D-mannosa, dan L-rhamnosa yang menghasilkan alkohol, sedangkan D-xylosa dan L-arabinosa tidak dapat dikonversi menjadi alkohol secara langsung [14]. Dengan demikian, komposisi gugus gula reduksi sangat penting untuk diketahui agar dapat menentukan berapa banyak gugus gula reduksi yang dapat dikonversi menjadi alkohol. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan komposisi gugus gula reduksi hasil hidrolisis dengan bantuan gelombang mikro dari mikroalga *Arthrospira platensis* dengan pelarut asam. Pemilihan *Arthrospira platensis* sebagai bahan baku pembuatan bioetanol karena mikroalga jenis ini mengandung karbohidrat yang cukup tinggi berkisar antara 8-65% [15-22]. Hasil hidrolisis kemudian difermentasi dan kandungan bioetanolnya ditentukan dengan cara distilasi yang selanjutnya dianalisis dengan *Gas Chromatography* (GC).

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain *microwave chemical reactor* (Electrolux EMM2308X, China), labu Erlenmeyer, *shaking water*

bath (SWB 30, China), pompa vakum (ROCKER 300, Taiwan), *glass vacuum suction filter*, dan rangkaian alat distilasi. Sementara itu, bahan - bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain mikroalga *Arthrospira platensis* kering yang diperoleh dari Beautiful Tropical Life of Bali Ltd. dengan kemurnian 100%, asam sulfat (H_2SO_4) dengan kemurnian 98% (Merck, USA), kultur *Saccharomyces cerevisiae*, kertas saring Whatman® No. 42 (Sigma-Aldrich, USA), Millipore 0,45 μm (Merck, USA), dan *deionized water*.

Cara Kerja

a. Hidrolisis dengan *Microwave Chemical Reactor*

Sebanyak 10 g mikroalga *Arthrospira platensis* ditambahkan ke dalam tabung reaktor 300 mL, kemudian ditambahkan larutan H_2SO_4 0,3 M sebanyak 100 mL. Selanjutnya tabung reaktor dimasukkan ke dalam *microwave* kemudian diaduk dengan menggunakan pengaduk magnetik dan dipanaskan sampai suhu 100 ± 1 °C selama 8 menit (kecepatan pemanasan sebesar 8 °C/menit). Setelah mencapai suhu 100 °C, proses hidrolisis dimulai dan berlangsung selama 90 menit. Hasil hidrolisis berupa campuran padatan dan cairan disajikan pada Gambar 1. Setelah itu, campuran padatan dan cairan tersebut disaring dengan kertas saring biasa, dilanjutkan dengan kertas saring Whatman® No. 42, dan terakhir disaring dengan Millipore 0,45 μm . Padatan yang diperoleh dari hasil penyaringan kemudian dikeringkan untuk diuji komposisinya dengan *Fourier-Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR), sedangkan kandungan gugus monosakarida di dalam hidrolisat dianalisis dengan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC).

b. Fermentasi

Fermentasi dijalankan di dalam labu Erlenmeyer 250 mL yang berisi 100 mL hidrolisat dengan konsentrasi kultur *Saccharomyces cerevisiae* sebesar 5% berat. Fermentasi dijalankan dalam suhu 30 °C pada kondisi anaerob dalam *shaking water bath* selama 96 jam seperti terlihat pada Gambar 2. Hasil fermentasi selanjutnya didistilasi pada suhu antara 96 dan 98 °C untuk memisahkan kandungan bioetanol dari pelarutnya. Selanjutnya konsentrasi bioetanol yang diperoleh dianalisis dengan GC.



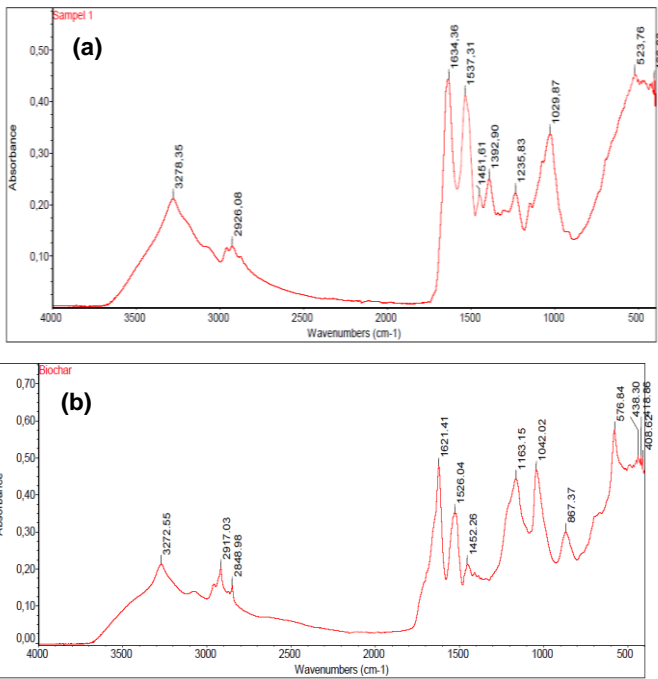
Gambar 1. Hasil hidrolisis *Arthrospira platensis* (H_2SO_4 0,3 M, 100 °C, dan 90 menit) dengan bantuan gelombang mikro



Gambar 2. Fermentasi dalam shaking water bath pada suhu 30 °C selama 96 jam

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil hidrolisis berupa hidrolisat dan padatan. Selanjutnya komposisi padatan sisa hidrolis dianalisis dengan FTIR yang bertujuan untuk mengetahui komponen - komponen organik yang terkandung di dalam sampel padatan tersebut. Untuk membandingkan komponen organik sebelum dan sesudah proses hidrolisis, maka dilakukan pula analisis FTIR untuk serbuk *Arthrospira platensis* murni. Gambar 3 menunjukkan spektra FTIR untuk padatan sisa hidrolisis dan serbuk *Arthrospira platensis* murni. Sementara itu, komposisi gugus gula reduksi dalam hidrolisat dianalisis dengan HPLC.



Gambar 3. Hasil analisis FTIR untuk *Arthrospira platensis*: (a) murni dan (b) biochar

Hasil analisis FTIR pada Gambar 3a menunjukkan bahwa intensitas *peak* tertinggi pada rentang bilangan gelombang di atas 2970 cm^{-1} terjadi pada bilangan gelombang $3278,35\text{ cm}^{-1}$ dimana pada bilangan gelombang tersebut menunjukkan gugus fungsi hidroksil -OH yang termasuk dalam golongan senyawa alkohol. *Peak* dengan rentang bilangan gelombang $2850 - 2970\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan regangan vibrasi ikatan C-H yang merupakan golongan senyawa alkana dan *peak* dengan serapan kuat dan tajam pada rentang bilangan gelombang $1610 - 1680\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan regangan vibrasi ikatan C=C yang merupakan golongan senyawa alkena. Sementara itu, *peak* dengan rentang bilangan gelombang $1340 - 1470\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan regangan vibrasi ikatan C-H yang merupakan golongan senyawa alkana. Pada *peak* di rentang bilangan gelombang $1050 - 1300\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan regangan vibrasi ikatan C-O dengan golongan senyawa alkohol, eter, asam karboksilat, maupun ester [23,24]. Sementara itu, spektra pada Gambar 3b menunjukkan kemiripan posisi *peak* antara sampel padatan sisa hidrolisis dengan sampel mikroalga murni, sehingga dapat disimpulkan bahwa padatan sisa hidrolisis mempunyai komponen yang identik dengan komponen dalam mikroalga murni.

Tabel 1. Konsentrasi gula reduksi sebelum dan setelah fermentasi

Gula Reduksi	Waktu Retensi, menit	Konsentrasi (g/L larutan)		Konversi, %
		Sebelum Fermentasi	Setelah Fermentasi	
L- Rhamnosa	5,9	0,75	0,48	36,0
D-Xylosa	8,5	0,60	0,57	5,0
L-Arabinosa	10,0	0,37	0,32	13,5
D-Mannosa	10,2	1,22	0,93	23,8
D-Glukosa	12,9	10,52	1,91	81,8
D-Galaktosa	14,6	2,34	0,32	86,3

Tabel 1 menunjukkan konsentrasi gula reduksi hasil uji dengan HPLC dari dua sampel hidrolisat *Arthrospira platensis* masing-masing sebelum dan setelah fermentasi. Dari Tabel 1 terlihat bahwa semua konsentrasi gula reduksi mengalami penurunan setelah proses fermentasi karena sebagian telah dikonversi menjadi bioetanol. Namun demikian, tidak semua gula reduksi dapat dikonversi menjadi bioetanol, hanya D-glukosa, D-galaktosa, D-mannosa, dan L-rhamnosa yang sebagian besar terkonversi menjadi bioetanol (23,8 - 86,3%), hanya sebagian kecil L-arabinosa dan D-xylosa yang terkonversi menjadi bioetanol (5,0 - 13,5%). Hal ini sesuai dengan hasil analisis Bera *et al.* [14] dimana D-glukosa, D-galaktosa, D-mannosa, dan L-rhamnosa sebagian besar akan dikonversi menjadi alkohol dengan bantuan *Saccharomyces cerevisiae*, sedangkan D-xylosa dan L-arabinosa dapat dikonversi menjadi alkohol jika menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* yang telah direkombinasi dengan cara rekayasa genetika.

Hidrolisat *Arthrospira platensis* yang telah difermentasi selanjutnya didistilasi pada suhu $96 - 98\text{ }^{\circ}\text{C}$. Dari 208,4 g hidrolisat yang didistilasi diperoleh distilat campuran bioetanol dan air sebanyak 6,02 g. Selanjutnya kadar bioetanol dalam distilat dianalisis dengan GC dan diperoleh kadar bioetanol sebesar 13,38% atau sebanyak 0,81 g dari total distilat yang setara dengan kadar bioetanol sebesar 3,90 g/L hidrolisat. Jika sisa hidrolisat pada suhu $98\text{ }^{\circ}\text{C}$ merupakan campuran biner etanol - air dan bersifat ideal, maka secara teoritis kadar bioetanol di dalam sisa hidrolisat pada kondisi *bubble point* $98\text{ }^{\circ}\text{C}$ tersebut sebanyak 12,84% atau seberat 25,98 g. Perhitungan *bubble point* didasarkan dari data tekanan uap murni etanol dan air yang diperoleh dari Sinnott [25]. Dari hasil perhitungan *bubble point* di atas terlihat bahwa konsentrasi bioetanol dalam hidrolisat jauh lebih tinggi dari pengukuran konsentrasi bioetanol dengan

GC. Hal ini menunjukkan bahwa hidrolisat terdiri dari campuran multikomponen.

Penelitian serupa telah dilakukan oleh Markou *et al.* [26] dimana proses hidrolisis dilakukan pada suhu 100°C selama 90 menit dengan menggunakan pelarut H₂SO₄ 0,25 M, sedangkan proses fermentasi dilakukan pada suhu 30°C dengan menggunakan ragi *Saccharomyces cerevisiae* selama 24 jam dan diperoleh hasil bioetanol sebesar 16,27% ± 0,97% (g bioetanol/g biomassa). Sementara itu, hasil bioetanol yang diperoleh pada penelitian ini lebih rendah yaitu sebesar 8,05% (g bioetanol/g biomassa) meskipun menggunakan konsentrasi H₂SO₄ sedikit lebih tinggi (0,3 M). Hal ini kemungkinan terjadi karena kandungan karbohidrat dalam biomassa mikroalga pada penelitian ini lebih rendah daripada kandungan karbohidrat dalam biomassa yang digunakan Markou *et al.* [26], sehingga bioetanol yang dihasilkan pun akan lebih rendah. Pada penelitian ini tidak dilakukan optimasi untuk mendapatkan kandungan karbohidrat yang tinggi karena mikroalga yang digunakan bukan berasal dari hasil kultivasi melainkan serbuk mikroalga kering yang dijual di pasaran.

Selain itu, jika dibandingkan dengan jenis biomassa yang lain, maka konsentrasi bioetanol yang diperoleh pada penelitian ini hampir sama dengan konsentrasi bioetanol hasil fermentasi dari *duckweed* (*Lemna minor*) seperti yang telah dilakukan oleh Khodijah dan Abtokhi [27], dimana proses fermentasi hidrolisat dari *duckweed* dilakukan selama 5-7 hari dengan memvariasikan konsentrasi ragi *Saccharomyces cerevisiae* sebesar 5, 15, dan 25%. Untuk konsentrasi ragi yang sama dengan penelitian ini (5%), bioetanol yang dihasilkan sebesar 5,00 g/L hidrolisat. Terlihat bahwa hasil bioetanol dari fermentasi *Arthrospira platensis* sedikit lebih rendah (3,90 g/L hidrolisat) daripada *duckweed* karena durasi fermentasi *duckweed* lebih lama (6 hari) daripada durasi fermentasi *Arthrospira platensis* (4 hari). Semakin lama waktu fermentasi, semakin banyak bioetanol yang dihasilkan. Selama kandungan gula reduksi belum habis dikonsumsi oleh mikroorganisme sebagai sumber makanan, maka produksi bioetanol masih tetap berlangsung, sehingga konsentrasi bioetanol akan semakin meningkat [28]. Namun demikian, konsentrasi maksimum bioetanol yang masih dapat ditoleransi oleh *Saccharomyces cerevisiae* sebesar 20% (v/v) [29, 30].

KESIMPULAN

Konversi mikroalga *Arthrospira platensis* dilakukan dengan cara hidrolisis menggunakan pelarut asam sulfat. Hidrolisat yang diperoleh selanjutnya difermentasi menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*. Dari hasil analisis diperoleh beberapa gugus gula reduksi antara lain D-glukosa, D-galaktosa, D-mannosa, L-rhamnosa, D-xylosa, dan L-arabinosa. Namun hanya D-glukosa dan D-galaktosa yang sebagian besar dapat dikonversi menjadi bioetanol dengan kadar 3,90 g bioetanol/L hidrolisat. Dengan tingginya kandungan D-glukosa dan D-galaktosa di dalam hidrolisat diharapkan akan meningkatkan kadar bioetanol yang dihasilkan dari proses fermentasi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta yang telah memberikan dukungan finansial melalui Program Penelitian Dosen dan Mahasiswa Tahun 2023 dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Penelitian No. 150/KajurTek.Kimia-S1/70/Prodi Tekim-S1/VI/2023.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi, "Indonesia Darurat Energi", <https://www.bppt.go.id/teknologi-informasi-energi-dan-material/3296-bppt-indonesia-darurat-energi>, diakses tanggal 10 Agustus 2023.
- [2] Kontan.co.id., "BPH Migas Dorong Penggunaan LNG sebagai Bahan Bakar Kereta Api", <https://industri.kontan.co.id/news/bph-migas-dorong-penggunaan-lng-sebagai-bahan-bakar-kereta-api>, diakses tanggal 1 Maret 2024.
- [3] Y. K. Dasan, M. K. Lam, S. Yusup, J. W. Lim, and K. T. Lee, "Life cycle evaluation of microalgae biofuels production: Effect of cultivation system on energy, carbon emission and cost balance analysis," *Sci. Total Environ.*, vol. 688, pp. 112-128, June 2019.
- [4] E. Sadatshojai, D. A. Wood, and D. Mowla, "Third Generation of biofuels exploiting microalgae, sustainable green chemical processes and their allied application," *Springer*, pp. 575-588, 2020.
- [5] J. J. Mayers, S. Vaiciulyte, E. Malmhäll-Bah, J. Alcaide-Sancho, S. Ewald, A. Godhe, and E. Albers,

- "Identifying a marine microalga with high carbohydrate productivities under stress and potential for efficient flocculation," *Algal Res.*, vol. 31, pp. 430-442, March 2018.
- [6] S. Tang, C. Qin, H. Wang, S. Li, and S. Tian, "Study on supercritical extraction of lipids and enrichment of DHA from oil-rich microalgae," *J. Supercrit. Fluids*, vol. 57, no.1, pp. 44-49, January 2011.
- [7] J. H. Hwang, A. N. Kabra, M. K. Ji, J. Choi, M. M. El-Dalatony, and B. H. Jeon, "Enhancement of continuous fermentative bioethanol production using combined treatment of mixed microalgal biomass," *Algal Res.*, vol. 17, pp. 14-20, April 2016.
- [8] A. Krishnamoorthy, C. Rodriguez, and A. Durrant, "Optimisation of ultrasonication pretreatment on microalgae *Chlorella vulgaris* & *Nannochloropsis oculata* for lipid Extraction in biodiesel production," *Energy*, vol. 278, p. 128026, June 2023.
- [9] Q. Fu, C. Xiao, Q. Liao, Y. Huang, A. Xia, and X. Zhu, "Kinetics of hydrolysis of microalgae biomass during hydrothermal pretreatment," *Biomass Bioenergy*, vol. 149, p. 106074, April 2021.
- [10] M. A. Kassim and S. Bhattacharya, "Dilute alkaline pretreatment for reducing sugar production from *Tetraselmis suecica* and *Chlorella* sp. Biomass," *Process Biochem*, vol. 51, no. 11, pp. 51, 1757-1766, November 2016.
- [11] S. K. Thangavelu, T. Rajkumar, D. K. Pandi, A. S. Ahmed, and F. N. Ani, "Microwave assisted acid hydrolysis for bioethanol fuel production from sago pith waste," *Waste Manage*, vol. 86, no. 1, pp. 80-86, January 2019.
- [12] K. L. Yu, W. H. Chen, H. K. Sheen, J. S. Chang, C. S. Lin, H. C. Ong, and T. C. Ling, "Bioethanol production from acid pretreated microalgal hydrolysate using microwave-assisted heating wet torrefaction," *Fuel*, vol. 279, no. 1, p. 118435, June 2020.
- [13] Y. Zhang, S. Soldatov, I. Papachristou, N. Nazarova, G. Link, W. Frey, and S. Silve, "Pulsed microwave pretreatment of fresh microalgae for enhanced lipid extraction," *Energy*, vol. 248, no. 1, p. 123555, February 2022.
- [14] A. K. Bera, M. Sedlak, A. Khan, and N. W. Y. Ho, "Establishment of L-arabinose fermentation in glucose/xylose co-fermenting recombinant *Saccharomyces cerevisiae* 424A (LNH-ST) by genetic engineering," *Appl. Microbiol. Biotechnol*, vol. 87, no. 5, pp. 1803-1811, May 2010.
- [15] B. H. Um and Y. S. Kim, "A chance for Korea to advance algal-biodiesel technology," *J. Ind. Eng. Chem.*, vol. 15, no. 1, pp. 1-7, January 2009.
- [16] R. Harun, B. Liu, and M. K. Danquah, "Analysis of process configurations for bioethanol production from microalgal biomass, in: S. S. Shaukat (Ed), progress in biomass and bioenergy production," *Intechopen.com*, pp. 1-14, July 2011.
- [17] U. Jena, K. C. Das, and J. R. Kastner, "Effect of operating conditions of thermochemical liquefaction on biocrude production from *Spirulina platensis*," *Bioresour. Technol.*, vol. 102, no. 10, pp. 6221-6229, May 2011.
- [18] B. M. Chagas, C. Dorado, M. J. Serapiglia, C. A. Mullen, A. A. Boateng, and M. A. Melo, "Catalytic pyrolysis-GC/MS of *Spirulina*: evaluation of a highly proteinaceous biomass source for production of fuels and chemicals," *Fuel* vol. 179, pp. 123-134, September 2016.
- [19] R. D. P. Rodrigues, F. C. de Castro, R. S. de Santiago-Aguiar, and M. V. P. Rocha, "Ultrasound-assisted extraction of phycobiliproteins from *Spirulina* (*Arthrospira*) *platensis* using protic ionic liquids as solvent," *Algal Res.*, vol. 31, pp. 454-462, March 2018.
- [20] M. Tourang, M. Baghdadi, A. Torang, and S. Sarkhosh, "Optimization of carbohydrate productivity of *Spirulina* microalgae as a potential feedstock for bioethanol production," *Int. J. Environ. Sci. Technol.*, vol. 16, pp. 1303-1318, 2019.
- [21] E. B. Werlang, J. Julich, M. V. G. Muller, F. de Farias Neves, E. Sierra-Ibarra, A. Martinez, and R. C. S. Schneider, "Bioethanol from hydrolyzed *Spirulina* (*Arthrospira platensis*) biomass using ethanologenic bacteria," *Bioresour. Bioprocess*, vol. 7, no.1, pp. 1-9, May 2020.
- [22] Kusmiyati, A. Heratri, S. Kubikazari, A. Hidayat, and Hadiyanto, "Hydrolysis of microalgae *Spirulina platensis*, *Chlorella* sp., and macroalgae *Ulva lactuca* for bioethanol production," *Int. Energy J.*, vol. 20, no. 4, pp. 611-620, December 2020.
- [23] D. A. Skoog, F. J. Holler, and S. C. Crouch. Principle of Instrumental Analysis, 7th ed., Boston: Cengage Learning, 2018.
- [24] A. B. D. Nandiyanto, R. Oktiani, and R. Ragadhita, "How to read and interpret FTIR spectroscopy of organic material," *IjoST*, vol. 4, no. 1, pp. 97-118, April 2019.
- [25] R. K. Sinnott. Coulson & Richardson's - Chemical Engineering Design, 4th ed., vol. 6. Oxford, MA: Elsevier Butterworth-Heinemann, 2005.
- [26] G. Markou, I. Angelidaki, E. Nerantzis, and D. Georgakakis, "Bioethanol production by carbohydrate-enriched biomass of *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis*," *Energies*, vol. 6, no. 8, pp. 3937-3950, August 2013.

- [27] S. Khodijah and A. Abtokhi, "Analisis pengaruh variasi persentase ragi (*Saccharomyces cerevisiae*) dan waktu pada proses fermentasi dalam pemanfaatan duckweed (*Lemna minor*) sebagai bioetanol", *Jurnal Neutrino*, vol. 7, no 2, pp. 71-76, April 2015.
- [28] M. E. Legaz, R. de Armas, E. Barriguete, and C. Vicente, "Binding of soluble glycoproteins from sugarcane juice to cells of acetobacter diazotrophicus," *J. Internatl. Microbiol.*, vol. 3, no. 3, pp. 177-182, September 2000.
- [29] P. M. R. Guimarães, J.A. Teixeira, and L. Domingues, "Fermentation of lactose to bio-ethanol by yeasts as part of integrated solutions for the valorisation of cheese whey," *Biotechnol. Adv.*, vol. 28, no. 3, pp. 375-384, May-June 2010.
- [30] C. Kasavi, I. Finore, L. Lama, B. Nicolaus, S. G. Oliver, O. E. T. Oner, and B. Kirdar, "Evaluation of industrial *Saccharomyces cerevisiae* strains for ethanol production from biomass," *Biomass Bioenergy* vol. 45, pp. 230-238, October 2012.